Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Untersuchungen über den Lipoidanteil der Serumfraktionen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von:
Gerhard Finger
Erlangen 1963

D 29

1963 № 146

Dekan: Prof, Dr. med. G. Theissing

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 11. 1963

Sonderabdruck

DIE MEDIZINISCHE WELT

SCHRIFTLEITUNG:
DOZ. DR. E. VOLHARD · DOZ. DR. P. MATIS · DR. F. KNUCHEL

ÄRZTLICHE WOCHENSCHRIFT BEGRÜNDET VON FRANZ VOLHARD

FRIEDRICH-KARL SCHATTAUER-VERLAG · STUTTGART 1.

SCHATTAUER-VERLAG

2. Dezember 1961 / Nr. 48

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Untersuchungen über den Lipoidanteil der Serumfraktionen *

Aus der Med. Universitätsklinik mit Poliklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

G. BERG und G. FINGER

Unter den verschiedenen zur Charakterisierung von Lipoproteiden verwendeten Methoden bietet die Elektrophorese die Möglichkeit, sowohl den Protein- wie den Lipoidanteil durch spezifische Färbemethoden darzustellen. Da der Lipoidanteil mancher Serumfraktionen verhältnismäßig klein ist, werden bei der papierelektrophoretischen Trennung die Lipoidanteile nur unvollständig erfaßt. Besser eignet sich hierfür die Stärkeelektrophorese, die auch bei Verwendung größerer Serummengen ein gutes Fraktionierungsergebnis liefert und die in geringerer Menge vorhandenen Lipoide erfaßt (1). Trotz der unterschiedlichen Anfärbung einzelner Fettkomponenten (2) eignet sich diese Methode zur Charakterisierung von Lipoproteiden. In Fortführung bereits früher mitgeteilter Untersuchungsergebnisse (1, 3) sollte nun geprüft werden, ob sich zwischen Protein- und Lipoidanteil

* Herrn Prof. Dr. N. Henning zum 65. Geburtstag gewidmet.

Für Literaturangaben:

Med. Welt Nr. 48: 2521—2525 (1961)

der Serumfraktionen gesetzmäßige Beziehungen ergeben. Die Frage ist deshalb von erheblicher Bedeutung, weil unsere Kenntnisse über die Eigenschaften der Serumlipoproteide verhältnismäßig gering sind. Insbesondere sollte aber untersucht werden, ob es möglich ist, aus dem Serumpherogramm Schlüsse über den Anteil der Lipoproteide zu ziehen, wie das für die Kohlehydratanteile der Serumfraktionen nachgewiesen werden konnte (4). Hierzu wurden an einem unausgewählten Material die Protein- und die Lipoidanteile mit der Papier- bzw. Stärkeelektrophorese bestimmt und weiterhin geprüft, ob zwischen diesen beiden Komponenten Beziehungen bestehen und wie sich die Lipoproteide bei verschiedenen Krankheiten verhalten.

Material und Methodik

Die Untersuchungen wurden an einem nicht ausgewählten Material von 141 Fällen vorgenommen. Die Blutentnahme erfolgte nüchtern.

Die Bestimmung der Proteinfraktionen wurde mittels Papierelektrophorese unter den üblichen Standardbedingungen vorgenommen (10).

Die Serumlipoide wurden mit der Stärkeelektrophorese nach einer von uns früher bereits beschriebenen Methode analysiert (5). 0,5 ml Serum wurden auf einer Stärkeplatte (Maisstärke) von 1—2 mm Schichtdicke unter Verwendung des Michaelispuffers pH 8,6 der Ionenstärke 0,1 über eine Strecke von 18—20 cm getrennt. Die Trennzeit betrug mindestens 24 Stunden. Ein Papierabdruck dieser Stärkeplatte wurde mit Sudanschwarz gefärbt, im Elphorintegraphen ausgewertet und danach zur Lokalisation der Lipoidanteile die Hälfte des Streifens mit Amidoschwarz 10 B angefärbt. Die Werte für die Lipoidanteile der Serumfraktionen wurden nach Einzeichnen der Gauss'schen Kurven für die einzelnen Fraktionen durch Planimetrieren ermittelt und in rel. % angegeben.

Es wurde zunächst unter Verwendung der Methode der einfachen linearen Regressionsberechnung (13) untersucht, ob zwischen dem Protein- und dem Lipoidanteil der einzelnen

Serumfraktionen gesetzmäßige Beziehungen bestehen. Die grundsätzlichen Voraussetzungen für eine derartige Untersuchung sind insofern gegeben, als in den einzelnen Serumfraktionen in jedem Falle Lipoide, allerdings in unterschiedlicher Menge, enthalten sind. Für diese Untersuchungen wurden 134 Fälle verwendet.

Es wurde ferner untersucht, ob der Lipoidanteil der Serumfraktionen bei den verschiedenen Krankheitsgruppen Unterschiede aufweist. Hierzu wurde das gesamte kasuistische Material, 141 Fälle, in Gruppen mit der gleichen Diagnose zusammengefaßt:

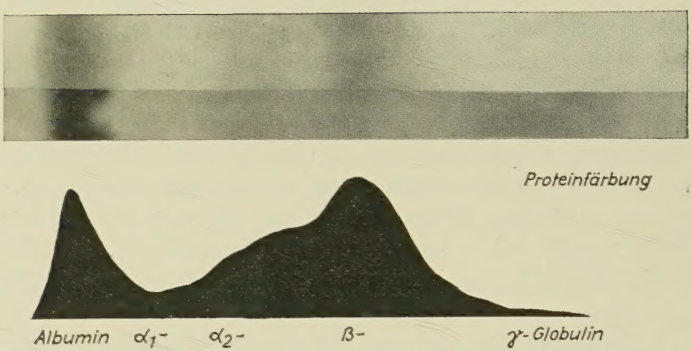
1. Erkrankung der Leber und der Gallenwege
2. Erkrankung des Herzens und der Kreislauforgane
3. Maligne Tumoren
4. Entzündliche Erkrankungen
5. Erkrankungen des Magens
6. Erkrankungen der Nieren und der ableitenden Harnwege

Die einzelnen Gruppen wurden mit dem t-Test (13) auf das Vorliegen von Unterschieden geprüft, wobei die Werte der einzelnen Gruppen mit den Werten der klinisch Gesunden verglichen wurden.

Ergebnisse

Ein Vergleich der mit Amidoschwarz und Sudanschwarz gefärbten Papierstreifen nach Stärkeelektrophorese zeigt, daß in allen Serumfraktionen Lipoidanteile vorhanden sind (Abb. 1*). Im Bereich des Albumin ist eine schnellwandernde Lipoproteidfraktion enthalten. Der Fettanteil des α_1-Globulin ist klein, in der α_2-Fraktion ist er deutlich größer. Die β-Globulinfraktion enthält den Hauptanteil des im Serum vorhandenen Fettes. Im γ-Globulinbereich sind nur wenig Lipoproteide nachzuweisen und es ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob sie nicht den Makroglobulinen der β-Fraktion zuzurechnen sind.

Prüft man nun, ob der Protein- und der Lipoidanteil der Serumfraktionen voneinander abhängen, so ergeben sich folgende in Tabelle 1 dargestellten Verhältnisse.



A b b. 1 : Stärkeelektrophorese eines Serums mit Protein- und Lipoidfärbung, die eine Zuordnung lipoidhaltiger Komponenten zu den Serumeiweißfraktionen gestattet. Ferner ist das ausgewertete Lipoidpherogramm dargestellt

T a b. 1 : Untersuchungen über die Abhängigkeit des Lipoid- und Proteinanteils des gesamten Materials

Fraktionen		b	B	P	Zahl der Fälle
Albumin		0,38	0,105	0,001	134
α_1	Globulin	0,25	0,028	0,05	134
α_2		0,42	0,035	0,05	134
β		0,60	0,029	0,05	134
γ		0,44	0,099	0,001	134

In Tabelle 1 sind die Regressions-Koeffizienten (b), Bestimmtheiten (B) und Sicherheitspunkte (P) wiedergegeben. Abhängigkeiten zwischen Protein- und Lipoidanteil sind entsprechend einem P von mindestens 0,05 in jedem Falle statistisch gesichert. Es zeigt sich im übrigen, daß in der β-Globulinfraktion der höchste und im Bereich der α_1-Globulinfraktion der geringste Lipoidanteil enthalten ist.

Die in Tabelle 1 wiedergegebenen Werte sind ferner in Abbildung 2 veranschaulicht. Hier sind die Regressionsgeraden, die die Beziehungen zwischen Protein- und

Lipoidanteil wiedergeben, dargestellt. Für sie gilt die allgemeine Gleichung $Y = \bar{y} - b\,(x - \bar{x})$. ($\bar{y}$ = Mittelwert der Lipoidanteile; b = Regressionskoeffizient; $\bar{x}$ = Mittelwert der Proteinanteile). Die Geraden sind für die Bereiche eingezeichnet, in denen sich die Proteinwerte der einzelnen Fraktionen bewegen. Für die β-Globulinfraktion liegt bei einem Proteingehalt von etwa 8—22% der Lipoidanteil des Serums für diese Fraktionen zwischen 52 und 60%. Er ist in dieser Fraktion am größten. Gemessen am Eiweißgehalt enthält die α_2-Globulinfraktion die nächsthöhere Menge an Lipoiden. Das Verhältnis ist für die α_1- und die γ-Globulinfraktionen etwa als gleich anzusehen. Bezogen auf den relativ hohen Eiweißanteil enthält die Albuminbande am wenigsten Lipoide.

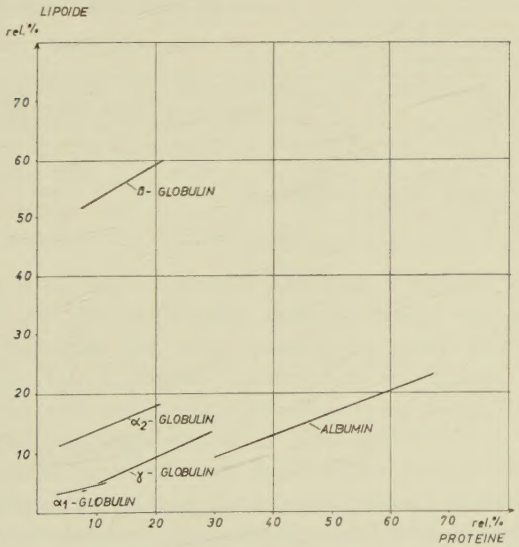


Abb. 2

Eine Gegenüberstellung der Mittelwerte der Lipoidanteile der einzelnen Serumfraktionen ergibt für die

verschiedenen Krankheitsgruppen folgende Werte, die in Tabelle 2 zusammengefaßt sind.

Tab. 2: Bestimmung des Lipoidanteils der Serumfraktionen bei den verschiedenen Krankheitsgruppen

Gruppen	Zahl d. Fälle	rel. % Alb.	Globuline α_1	α_2	β	γ
Normal	38	20,39	3,86	14,60	51,94	8,95
Erkrankungen der Leber und der Gallenwege. Akute und chron. Hepatitis, komp. u. dekomp. Leberzirrhose, akute Cholezystitis, Cholangitis, Cholelithiasis, Verschlußikterus	26	**12,78** P = 0,001	3,41	**9,52** P = 0,01	**63,36** P = 0,001	10,93
Erkrankungen des Herzens und der Kreislauforgane. Arteriosklerose, Hochdruck, Myokardinfarkt	18	17,22	4,48	15,34	53,44	8,96
Maligne Tumoren. Leukämie, Karzinom, Sarkom, Lymphogranulomatose	24	19,26	4,09	13,44	56,71	6,36
Entzündliche Erkrankungen. Bakterielle Infekte, akutes rheum. Fieber, Pneumonie	14	16,14	4,53	15,44	58,22	6,34
Erkrankungen des Magens Gastritis, Ulcus	16	20,42	5,11	15,85	51,33	7,32
Erkrankungen der Nieren und der ableitenden Harnwege. Akute und chron. Glomerulonephritis, chron. Nephritis mit nephrotischem Einschlag, Pyelonephritis	5	19,26	4,19	**23,91** P = 0,05	50,66	4,60

In der Tabelle 2 sind 141 Fälle geordnet nach Krankheitsgruppen wiedergegeben. Die Werte für die Lipoidanteile der Serumfraktionen sind als Mittelwerte in rel. % angegeben. Bei einem Vergleich der verschiedenen Gruppen zeigt sich, daß gegenüber den normalen Werten Abweichungen für Lebererkrankungen und Nierenerkrankungen festzustellen sind. Bei den Lebererkrankungen ist die schnellwandernde Lipoidfraktion vermindert, desgleichen die Bande im α_2-Globulinbereich. Der Lipoidanteil in der β-Zone ist erhöht. Bei Nierenerkrankungen ist besonders die Zunahme der Lipoide im α_2-Globulinbereich hervorzuheben. Die statistisch gesicherten Unterschiede sind fett gedruckt.

Diskussion

Es kann auf Grund bisher vorliegender (6, 9) wie auch jetzt ermittelter Ergebnisse als erwiesen gelten, daß in allen Serumfraktionen Lipoide enthalten sind.

Die in Tabelle 1 und Abbildung 2 wiedergegebenen Befunde liefern neue Ergebnisse über die Eigenschaften der Lipoproteide. Hervorzuheben sind besonders die engen Beziehungen zwischen Protein- und Lipoidanteil. Sie besagen, daß bei einer Zu- oder Abnahme des Proteinanteils um 1% sich der Lipoidanteil der Fraktionen um einen bestimmten prozentualen Anteil ändert, der dem des Regressionskoeffizienten entspricht, also für die einzelnen Fraktionen um 0,25% bis 0,6%. Als Maß des Verhältnisses Protein- zu Lipoidanteil kann der Quotient gelten, der aus den Mittelwerten der Protein- und Lipoidanteile gebildet wird:

Tab. 3

$$Q = \frac{\text{Mittelwert des Proteinanteils}}{\text{Mittelwert des Lipoidanteils}}$$

Er beträgt für einzelne Fraktionen:

Albumin	$= \frac{51{,}25}{17{,}78}$	$= 2{,}88$
Globulin α_1	$= \frac{6{,}93}{4{,}21}$	$= 1{,}64$
Globulin α_2	$= \frac{10{,}81}{14{,}19}$	$= 0{,}76$
Globulin β	$= \frac{12{,}98}{55{,}33}$	$= 0{,}23$
Globulin γ	$= \frac{18{,}04}{8{,}56}$	$= 2{,}10$

Je kleiner der Quotient, desto größer ist die in der Eiweißfraktion enthaltene Lipoidmenge und umgekehrt. Eine bestimmte Eiweißmenge ist also mit einer bestimmten Lipoidmenge zu einem Komplex verbunden. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist umso bemerkenswerter, als die Methode der Lipoidbestimmung als außer-

ordentlich grob anzusehen ist. Die Serumlipoide verhalten sich hinsichtlich ihrer Anfärbung verschieden, so daß eine quantitative Auswertung nicht möglich ist. Das Neutralfett färbt sich am besten an (2), es wird in der α_2- und β-Globulinfraktion transportiert (3, 9, 12, 14). Auch in den vorliegenden Befunden wurde der Lipoidanteil dieser Fraktionen am höchsten gefunden, was als weiterer Beweis dafür angesehen werden kann, daß die beiden Fraktionen relativ viel Neutralfette enthalten. In den übrigen Fraktionen, vor allem in der schnellwandernden Lipoidfraktion, sind dagegen vorwiegend die mit Fettfarbstoffen weniger gut anfärbbaren Lipoide enthalten. Um so bemerkenswerter ist hier die statistisch gesicherte Korrelation zwischen dem Protein- und Lipoidanteil.

Es bleibt die Frage offen, mit welchem Protein die schnellwandernde Lipoidfraktion konjugiert ist. Auf Grund immunologischer Untersuchungen kann es als erwiesen gelten, daß dieser Lipoidanteil Bestandteil schnellwandernder α-Globuline ist, die zufällig die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit wie das Albumin haben (6). Diese Unterfraktionen stellen offenbar einen erheblichen Anteil der „Albuminfraktion" dar. Hierfür spricht die Tatsache, daß bei Vergleich des Proteinanteils dieser Fraktionen mit deren Lipoidgehalt eine positive statistisch gesicherte Korrelation nachzuweisen ist. Hieraus ergibt sich für die Beurteilung des Albumingehaltes in der Klinik der Hinweis, daß eine Abnahme der „Albuminfraktion" nicht unbedingt einer Abnahme des Albumins entsprechen muß. Zu diskutieren ist hier auch eine Abnahme der in diesem Bereich wandernden Lipoproteidfraktion. Eine derartige Annahme wäre vor allen Dingen für die Befunde bei Lebererkrankungen zu erwägen. Hierbei ist nämlich die Albuminabnahme mit einer Abnahme der schnellwandernden Lipoproteidfraktion vergesellschaftet (7, 8).

Das Verhalten der Lipoidanteile in den Serumfraktionen ergibt nur bei wenigen Krankheitsgruppen deutli-

che Unterschiede (Tab. 2). Eine Abnahme der schnellwandernden Lipoidfraktion ist bisher nur bei Lebererkrankungen nachgewiesen worden. (7, 8, 11). Sie ist so charakteristisch, daß sie diagnostisch zu verwerten ist. Das gilt besonders dann, wenn diese Fraktion erheblich vermindert ist oder ganz fehlt. Auch der Lipoidanteil im Bereich der α_2-Globulinfraktion ist in derartigen Fällen erniedrigt, dagegen ist er im β-Globulinbereich deutlich erhöht. Vergleicht man diese Befunde mit den Veränderungen im Serumpherogramm, so ist festzustellen, daß sich Protein- und Lipoidanteile der Fraktionen gleichsinnig verhalten. Das Albumin und die α-Fraktionen sind vermindert, während die β-Globulinfraktion erhöht gefunden wird. Bei Nierenerkrankungen, besonders beim nephrotischen Syndrom, ist der Lipoidanteil im α_2-Globulinbereich exzessiv erhöht. Auch im Serumpherogramm ist in den allermeisten Fällen eine auffällige Zunahme der α_2-Globuline festzustellen. Hier zeigen sich also ebenfalls gewisse Parallelen.

In den übrigen Krankheitsgruppen haben sich statistisch gesicherte Unterschiede im Verhalten der Lipoidanteile der Serumfraktionen gegenüber den Normalwerten nicht nachweisen lassen. Dies ist offenbar auf die relativ kleine Zahl der Fälle und die doch als recht grob anzusehende Methode der Lipoidbestimmung zurückzuführen.

Diese angeführten Beispiele zeigen aber, daß auch bei verschiedenen Krankheiten die engen Beziehungen zwischen Protein- und Lipoidanteil der Serumfraktion vorhanden sind. Die für diese Untersuchungen verwendeten Methoden machen es verständlich, daß solche Parallelen nur bei erheblichen Veränderungen sowohl der Protein- als auch der Lipoidanteile deutlich werden.

Aus den vorliegenden Ergebnissen ist der Schluß zu ziehen, daß Veränderungen der Serumlipoproteide eng mit den Serumeiweißverschiebungen gekoppelt sind. Dabei ist weniger die Art der Erkrankung von Bedeutung.

Orientiert man sich nach den sich im Pherogramm manifestierenden Serumveränderungen, so bedeutet dies, daß unabhängig von der Art der zugrundeliegenden Erkrankung die Lipoproteide prinzipiell die gleichen Veränderungen erfahren, wie sie schon im Serumpherogramm zu erkennen sind. Die Art und Menge der in den einzelnen Fraktionen vorhandenen Lipoide und die für ihren Nachweis benutzten Methoden machen es verständlich, daß Veränderungen der Lipoide einzelner Fraktionen stärker in den Vordergrund treten. Dies gilt vor allen Dingen für die α_2- und β-Fraktion, die besonders die gut anfärbbaren Neutralfette enthalten. In diesem Falle könnten solche Befunde sogar nähere Aussagen über das Verhalten einzelner Lipoide unter pathologischen Bedingungen ermöglichen, besonders für die wichtige Frage des Fett-Transportes in den Serumfraktionen (3). Man wird also auf Grund der engen Beziehungen zwischen Proteinen und Lipoiden der Serumfraktionen nicht nur den Lipoiden sondern auch den Proteinanteilen mehr Bedeutung als bisher beimessen müssen, besonders dann, wenn Fragen der Pathogenese zur Diskussion stehen. Für pathogenetische Studien mancher Erkrankungen, beispielsweise der Arteriosklerose, sollte deshalb das Augenmerk nicht allein auf Serumlipoide gerichtet werden, sondern auch auf ihre Proteinanteile gelenkt werden, da die Lipoproteide als biologische Einheit anzusehen sind.

Zusammenfassung

Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Lipoid- und Proteinanteil der Serumfraktionen zeigen eine enge Abhängigkeit der beiden Komponenten voneinander. Dies gilt für alle Serumfraktionen. In den einzelnen Fraktionen ist, bezogen auf den Eiweißanteil, die darin enthaltene Lipoidmenge verschieden. Sie ist in der α_2- und β-Fraktion infolge des hohen und färberisch gut darstellbaren Neutralfettes besonders groß. Die Serumlipoidfraktionen zeigen bei manchen Krankheiten, bei denen diese Veränderungen besonders ausgeprägt sind,

Parallelen zum Verhalten der Serumeiweißfraktionen. Die Bedeutung dieser Befunde für die Klinik wird diskutiert.

Literatur

(1) Berg, G.: Medizin und Ernährung 9 (1960). — (2) Berg, G., F. Scheiffarth, C. J. Estler und H. Schön: Klin. Wschr. 1958: 766. — (3) Berg, G.: Fette, Seifen, Anstrichmittel **63:** 329 (1961). — (4) Berg, G.: Klin. Wschr. 1959: 1122. — (5) Berg, G., L. R. Trabulsi und F. Scheiffarth: Klin. Wschr. 1958: 203. — (6) Berg, G., und H. Schön: Verh. Dtsch. Ges. in Med. **65:** 715 (1959). — (7) Berg, G., F. Scheiffarth und G. Marwan: Klin. Wschr. 1957: 415. — (8) Berg, G.: Verh. Dtsch. Ges. Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten **XVIII:** 269 (1955). — (9) Dietrich, F.: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie **302:** 327 (1955). — (10) Henning, N.: Klinische Laboratoriumsdiagnostik, München und Berlin 1960. — (11) Klein, E., F. H. Franken: Dtsch. Med. Wschr. 1955: 44. — (12) Kunkel, H. G., und R. Trautmann: J. clin. Invest. **33:** 641 (1956). — (13) Linder, A.: Statistische Methoden, Basel 1951. — (14) Schettler, G., F. Dietrich und M. Eggstein: Verh. dtsch. Ges. Kreislauf-Forsch. **21:** 124 (1955).

Copyright by Friedrich-Karl Schattauer-Verlag, Stuttgart. — Der Verlag behält sich alle Rechte, besonders die des Nachdruckes, der Vervielfältigung und der Übersetzung, vor.

Lebenslauf

Am 2. August 1932 wurde ich, Franz Lothar Gerhard Finger als Sohn des Buchhalters Gerhard Finger und seiner Ehefrau Martha Finger geb. Wiedemann in Greifswald/Pom. geboren.

Von 1939 bis 1943 besuchte ich die Volksschule in Greifswald und trat dann in die dortige Oberschule ein, die ich bis zum Abitur im Jahre 1952 besuchte.

Im Herbst 1952 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Humboldt-Universität zu Berlin. Im Frühjahr 1953 siedelte ich dann in die Bundesrepublik über. Da das Abitur der SBZ nicht anerkannt wurde, mußte ich mich einer „Ergänzungsprüfung zur Reifeprüfung" unterziehen, die ich im Oktober 1953 am Goethe-Gymnasium in Frankfurt/Main bestand.

Zum Sommer-Semester 1956 nahm ich mein Studium in Heidelberg wieder auf. Ein Jahr später, zum Sommer-Semester 1957 siedelte ich nach Erlangen über. Hier legte ich im Sommer 1959 mein Physikum ab und meldete mich im Herbst 1962 zum Staatsexamen, das ich im Sommer 1963 beendete.